CONTRIBUTO SPERIMENTALE

ALLA

FISIO-PATOLOGIA DEL SANGUE

Biologia delle piastrine

Teoria più verosimile della coagulazione

(Ricerche complementari)

SUNTO

PEL

Dott. ANGELO PETRONE

Professore ordinario di Anatomia patologica a Catania

Estratto dagli Atti della R. Accademia Medico-Chirurgica di Napoli

Anno L, Nuova Serie, N. 1.

albergo Monte Moro

Macugnaga

NAPOLI

Tipografia del Cav. A. Tocco

S. Pietro a Maiella, 31

1896

CONTRIBUTO SPERIMENTALE

ALLA

FISIO-PATOLOGIA DEL SANGUE

Biologia delle piastrine

Teoria più verosimile della coagulazione

(Ricerche complementari)

SUNTO

PEL

Dott. ANGELO PETRONE

Professore ordinario di Anatomia patologica a Catania

Estratto dagli Atti della R. Accademia Medico-Chirurgica di Napoli

Anno L, Nuova Serie, N. 1.

NAPOLI

Tipografia del Cav. A. Tocco

S. Pietro a Maiella, 31

1896

Dopo gli studii su quest'argomento, dimostrati a Napoli a parecchi Colleghi nell'Istituto di Anatomia patologica nel gennaio 1895 e pubblicati dopo pochi giorni in un sunto dalla "Riforma medica": e dopo le ricerche ulteriori comunicate all'Accademia Gioenia di Catania nel marzo 1895 e pubblicate anche in sunto negli Atti della stessa: arrivato alla conclusione, che il fibrino-fermento è contenuto nei corpuscoli rossi, e che nelle piastrine è contenuta una sostanza inibitrice della coagulazione, ho continuato le ricerche in proposito non solo per riconfermare i fatti precedenti, ma principalmente per risolvere 3 altri quesiti, che se hanno del valore per loro stessi, potranno anche contribuire alla conferma della teoria da me messa avanti per la coagulazione. I quesiti sono:

1.° Vi è anche aumento assoluto di piastrine nella prima settimana dell'avvelenamento pirogallico?

2.° Che cosa diventa degli scheletri dei corpuscoli rossi, le così dette *ombre* dei Francesi e dei Tedeschi: e quindi le piastrine ne sono il derivato?

3.° Come agiscono nel vivo da anticoagulanti il cloruro di sodio e l'ossalato di ammoniaca?

Esporrò brevemente i risultati di queste ultime ricerche, che ognuno potrà riscontrare nei suoi particolari nel lavoro per esteso, il quale sarà pubblicato fra breve. Sono poi esposti alla vostra osservazione i preparati microscopici principali, che vi mostreranno i fatti, da cui ho desunto pei quesiti enunciati quel che sarò per riferirvi.

1.°

Aumento delle piastrine

L'apprezzamento da me fatto sull'aumento assoluto delle piastrine nell'avvelenamento pirogallico, principalmente per aver potuto numerare nella 1ª fase dell'avvelenamento, 2° e 3° giorno, le forme

scheletriche nel sangue esattamente corrispondenti sul contaglobuli al numero dei corpuscoli rossi perduti, doveva avere un certo valore insieme coi segni di segmentazione, da me frequentemente notati nelle piastrine nei primi giorni dell' avvelenamento, e dalla loro grandezza molto varia, differente dal normale.

Potendo però avvenire l' inganno, nel senso che le così dette ombre, come molto trasparenti, rarefatte e spesso non nettamente visibili, facessero perciò molto risaltare le piastrine e quindi apprezzarle come assolutamente aumentate, anche quando il numero dei corpuscoli rossi è tuttora conservato, ma con diminuzione della densità e colorito, ho cercato di fare il calcolo possibilmente esatto, numerando le piastrine rimpetto ai corpuscoli rossi. Ed ho cominciato dallo stato normale, servendomi come mestruo del sangue, mentre si estrae, della soluzione osmica adatta per le piastrine.

Avendo l'accortezza di far uscir poco sangue nella goccia osmica e prendendo un poco di quella goccia colla lastrina covroggetti del contaglobuli, dopo aver con questa ben mescolato il sangue fuoriuscito nella goccia stessa, si ha sul contaglobuli un campo di osservazione molto nitido e si contano perfettamente i corpuscoli rossi, i bianchi e le piastrine: quando il sangue è alterato, come nello avvelenamento pirogallico, si contano bene anche gli scheletri cruorici.

Se la goccia di soluzione osmica fosse sempre eguale, ed eguale sempre la gocciolina di sangue che fuoresce, si potrebbe, come colla numerazione ordinaria dei corpuscoli rossi e bianchi, avere in ogni osservazione la cifra reale di ciascuna di quelle forme ed il loro rapporto nel sangue, facendo il noto calcolo. Ma pel caso nostro ciò non importa, perchè, a qualsiasi titolo capiti la miscela, il rapporto tra i diversi componenti morfologici del sangue non si altera, e quindi basterà prendere la media di varii quadrati e fare il paragone colla media ottenuta nello stato normale, per giudicare se le piastrine sono realmente aumentate o diminuite di numero. Se non che in questi sperimenti vi è diminuzione assoluta di corpuscoli rossi, e quindi la numerazione delle piastrine darà un risultato soltanto relativo: se p. e. il numero dei corpuscoli rossi da 40 per ogni quadrato scende a 20, allora supponendo che nello stato normale per ogni 40 corpuscoli rossi si hanno 2 piastrine, trovando in media in un quadrato 20 corpuscoli rossi e 2 piastrine, potrebbe credersi ad un aumento numerico delle stesse, che allora sarebbe soltanto relativo. Bisogna quindi a questa osservazione aggiungere quella della numerazione dei corpuscoli rossi col metodo ordinario, para-

gonare il numero ottenuto con la media normale, e poi dividendo il numero delle piastrine per il numero di riduzione segnato dei corpuscoli rossi, il quoziente segnerà il numero reale delle piastrine stesse, e si potrà immediatamente vedere se vi è aumento assoluto, richiamandosi al rapporto normale.

Esaminato il sangue, estratto nella soluzione osmica, di 5 cansani, prendendo sempre 3 volte 4 quadrati nella somma si ha :

nel 1°	corpuscoli rossi	101	piastrine	6
nel 2°	„	„	148	„	7
nel 3°	„	„	108	„	6
nel 4°	„	„	124	„	6
nel 5°	„	„	138	„	7
Totale	corpuscoli rossi		619	piastrine	32

In modo che la media del rapporto su 5 cani sani da me ottenuta è di 32 piastrine su 619 corpuscoli rossi. E restando a farsi un numero molto maggiore di osservazioni , con le variande che possono venire dalle diverse ore in cui si fa la ricerca, pel momento ho dovuto fissare il rapporto delle piastrine ai corpuscoli rossi con la proporzione seguente :

$$32:619::1:x=19\frac{11}{32}$$

Quindi in media una piastrina su circa 19 corpuscoli rossi nel sangue del cane sano. Questo rapporto nel sangue del cane si avvicina alla media segnata da Hayem, circa 1 piastrina su 20 corpuscoli rossi, o di 40 piastrine verso 1 corpuscolo bianco ; media desunta dall'esame del sangue di varii animali.

Col contaglobuli poi, impiegando il metodo ordinario il numero dei corpuscoli rossi in 16 quadrati è di circa 104 in media nel cane sano.

Continuando l'esame allo stesso modo nella serie dei cani avvelenati coll'acido pirogallico da 1 a 14 giorni, (sono quei cani servitimi per lo studio del destino delle ombre), ho trovato costantemente fin dal 2° giorno e principalmente dal 3° fortemente aumentata la proporzione delle piastrine rimpetto ai corpuscoli rossi, da arrivare in certi giorni ad eguagliarli quasi, come è registrato nelle singole osservazioni.

Quindi la prima conclusione, che nell'avvelenamento pirogallico

si distruggono in gran parte i corpuscoli rossi, ma non le piastrine: se anche queste avessero risentito la stessa azione distruggitrice il rapporto non avrebbe dovuto essere alterato rimpetto al normale.

Ma se le piastrine non sono distrutte, sono poi esse realmente aumentate, o l'aumento è soltanto relativo? Allora ho fatto calcolo della cifra ottenuta dai corpuscoli rossi col metodo ordinario, e costantemente, anche nei cani in cui il numero dei corpuscoli rossi scende al quarto, il numero delle piastrine non solo è 4 volte maggiore, che sarebbe l'aumento relativo, ma va al di là segnando perfino il doppio del normale ed anche più: e perciò da tutte le osservazioni che ho fatto a questo scopo ho potuto dimostrare, che nell'avvelenamento pirogallico durante la 1ª settimana vi è aumento assoluto delle piastrine.

Devo però far risaltare, che se anche le piastrine nel 1° tempo dell'avvelenamento pirogallico non aumentassero in modo assoluto, ma soltanto relativo, è indubitato che non diminuiscono e che sono più resistenti: perchè dunque allora il sangue aumenta la coagulabilità se le piastrine non sono attaccate, anzi sono rese più resistenti alla distruzione, tanto invocata per la coagulazione? Il solo fatto apprezzabile è l'alterazione dei corpuscoli rossi ed il rendersi libero del loro contenuto: e se con l'avvelenamento pirogallico non si può sostenere direttamente, che le piastrine contengano la sostanza inibitrice della coagulazione, si può escludere certamente che contengano il fibrino-fermento, la sostanza capace di incitare la coagulazione del fibrinogeno. Mi pare soverchio ripetere anche ora, di aver ottenuto la prova diretta, che nelle piastrine sia contenuta la sostanza anticoagulante, da quelle sostanze, che iniettate nel torrente circolatorio senza attaccare i corpuscoli rossi, distruggono rapidamente le piastrine.

2.°

Destino degli scheletri cruorici.

Per tutto ciò che si è detto da altri e da me a proposito delle piastrine, sarebbe confermata l'opinione, che esse sono un elemento morfologico del sangue. Questa opinione, fondata principalmente sul fatto del riscontro perfetto nello stato normale quando i corpuscoli rossi sono tutti integri, è vieppiù comprovata, perchè nelle osservazioni si apprezza costantemente, che le piastrine sono nettamente delimitate,

non hanno apparenza di membrana, non hanno irregolarità alla loro periferia, (come punte, angoli), hanno un contenuto omogeneo bianco-grigio quasi di uno splendore opaco; nessuna traccia di granuli: sono la metà e più piccole ancora rispetto ai corpuscoli rossi, talora ve ne sono più grosse con segni di strozzamento, ma ve ne sono ancora di molte piccole: per lo più ovalari, le piccole preferibilmente rotonde: col metodo misto, da me impiegato, si colorano benino e diffusamente col violetto di metile, col bleu di metilene, con la safranina, ecc., si conservano bene nella glicerina dopo la fissazione osmica, ed al proposito vi mostro uno dei preparati che data da circa un anno e mezzo. Invece gli scheletri cruorici hanno tutti la stessa grandezza o quasi, sono quanto un corpuscolo rosso, o un pò meno: hanno una vera membrana ma non sempre regolare, spesso con punte ed angoli: sono rotondeggianti, il loro contenuto è sempre di granuli, rari nel mezzo, più abbondanti alla periferia, e che si tingono fortemente col violetto di metile, mentre il fondo resta incolore: si deformano ancora dippiù in glicerina ove anche si disfanno, con tutto il trattamento osmico precedente: non si sorprende mai il loro passaggio in piastrine, invece sono inclusi dalle cellule fagocitarie, che allora in notevole quantità invadono il sangue. Con tutto ciò, stante che anche recentemente varii Autori tra i quali Wlassow e Ziegler ritengono probabile che le ombre si trasformano in piastrine, non avendo io mai potuto intravederne il passaggio in un grande numero di osservazioni e nello stato patologico, quando gli scheletri sono abbondanti, ho cercato seguire e studiare sistematicamente che cosa diventa degli stessi, una volta che, come io sono convinto, non diventano piastrine.

Partiamo dal fatto, che una leucocitosi molto forte, già segnata con cifre nei singoli casi, si avvera nel sangue dei cani avvelenati dall'acido pirogallico soltanto nel 2° e principalmente nel 3° giorno, quando vi sono molte ombre; e che scomparisce rapidamente allorchè di queste non più vi si trovano: dando quindi a questa leucocitosi il significato di fagocitismo nello stesso sangue, e ciò confermato dal fatto che si può talora in quelle cellule bianche trovare il principio del processo fagocitico sotto l'apparenza dell'inglobazione degli scheletri; ho stimato dover ricercare dove vanno a fermarsi tutti quei fagociti colle ombre ingoiate, e che diventa finalmente di queste.

Ho cominciato perciò coll'avvelenare una serie di cani all'acido

pirogallico per la via del retto, e dopo aver in tutti confermato il forte avvelenamento e fatto l' esame metodico del sangue, li ho sacrificati successivamente, quando non morivano per l'avvelenamento stesso, al 1°, 2°, 3°, 4° e così giornalmente sino al 14° giorno, oltre molti altri esempii che aveva dello stesso avvelenamento fino al 72° giorno.

Di tutti questi animali, appena morti o uccisi, si sono conservati pezzettini dei varii organi in alcool assoluto. Ho sacrificato anche un cane sano, senza alcun trattamento per ristudiare cogli stessi reagenti gli organi allo stato normale e metterli in confronto con quelli dei varii animali avvelenati.

Facendo calcolo dei fatti osservati in vita, ed esaminata la serie dei preparati microscopici ottenuti da tutti gli organi principali, dopo inclusione in paraffina e colorazione al carminio-borace o all'ematossilina, ho potuto riassumere quello, che è esposto minutamente nel lavoro per esteso, nel modo seguente.

I fagociti ingoiano gli scheletri cruorici nello stesso sangue circolante, quando nelle gravi alterazioni del sangue stesso si trovano in circolazione quegli spettri di corpuscoli rossi, che figurano da corpi estranei: a differenza del fagocitismo locale, che si fa in focolai patologici nella trama degli stessi tessuti, come negli infarti emorragici, tatuaggio, resipola, pustola maligna, ecc., e resta un fatto esclusivamente locale, meno l' arrivo di alcuni fagociti nelle glandole linfatiche prossimiori.

L'invasione fagocitica proviene da tessuti ed organi linfatici, e ciò è confermato dall' iperplasia acuta della trama linfogena del midollo delle ossa, ove è più chiaramente apprezzabile, e poi anche della massa follicolare delle glandule linfatiche e dei corpuscoli di Malpighi della milza.

Questo fagocitismo nel sangue, sotto la forma di leucocitosi, comincia dal 2° giorno dell' avvelenamento, quando vi sono nel sangue circolante molti scheletri di corpuscoli rossi. I fagociti, ingoiando le ombre, diventano cellule globulifere: ingoiano anche corpuscoli rossi non ancora completamente trasformati in scheletri, che, cioè, conservano ancora un poco di emoglobina.

La leucocitosi fagocitica massima al 3° giorno dell' avvelenamento, diminuisce al 4° e sempre quasi al 5°, non essendovi più ombre nel sangue.

Le cellule fagocitiche diventano cellule globulifere sempre più grosse, quanto maggiore è il numero dei corpuscoli rossi alterati

che hanno ingoiato, sino a 20 ed anche più: probabilmente perciò la maggior parte di esse non fuorescono dalla puntura fatta dall'ago, e quindi non si apprezzano in quantità notevole nel sangue che si estrae. Una parte di esse rientra per le vie umorifere nel torrente linfatico: e mediante i vasi afferenti arriva e si ferma in parte negli spazii dei seni linfatici alla periferia dei follicoli, in quantità maggiore negli spazii lacunari della sostanza midollare delle glandole linfatiche, ove costantemente se ne trovano in grande quantità nel 3° giorno dell'avvelenamento: non se ne trovano che raramente nel 2°; se ne trovano meno del 3° nel 4°: nel 5° non ve ne sono più, o quasi: vuol dire che con la stessa faciltà, con cui sono ivi arrivate, ne riescono e quindi di nuovo pel torrente linfatico nella corrente sanguigna. Raramente nei giorni ulteriori nelle glandule linfatiche si trova qualche cellula globulifera, o i residui regressivi delle stesse, come invece è la norma per gli altri organi. In modo che nelle glandule linfatiche la fermata delle cellule globulifere è soltanto transitoria. In un solo caso ne ho trovato anche al 13° giorno; e ciò probabilmente ha dipeso dal fatto, che il sangue ancora tenero, perchè di rigenerazione, facilmente si altera, anche pel freddo, come successe a quest'animale, quando fece a Catania la prima burrasca nel novembre: producendosi nuove ombre nei giorni precedenti pel forte freddo-umido repentinamente venuto, potè ripetersi per questo la lesione nelle glandule linfatiche.

Che le cellule globulifere manchino costantemente nei follicoli e nei cordoni follicolari, è giustificato dal fatto anatomico, che per le minime vie linfatiche ivi esistenti, i canali di Kowalewski, non può passare che il solo plasma, nemmeno le cellule linfatiche ordinarie.

Che poi le cellule globlifere si fermino solo qualche giorno nelle glandule linfatiche, e ne riescano quasi tutte senza aver subìto trasformazioni, è giustificato dalla struttura: gli spazii linfatici, se da una parte sono l'espansione finale del vase afferente, sono anche l'origine dell'efferente: e quindi una volta piena la glandula, ed in questi casi si deve riempire presto, si contrae la sua capsula, ed il contenuto dei seni linfatici e degli spazii midollari è spremuto e cacciato nei vasi efferenti: condizioni che mancano nei capillari sanguigni, specialmente di organi speciali, e perciò là, come dirò, si fermano definitivamente.

Le cellule globulifere in circolo e quelle riversatevi dalla corrente linfatica fin dal 3° e 4° giorno si vedono fermate nei capillari o equivalenti, in quei siti ove si trovano condizioni favorevoli, come

circolo lento, circolo lacunare, circolo ristretto per iperplasia del tessuto circostante, (midollo delle ossa), o per rigonfiamento torbido (fegato): perciò si trovano abbondantemente nei preparati della milza alla periferia dei corpuscoli di Malpighi entro la rete lacunare; in minore quantità nei vasi sanguigni della trama linfogena del midollo delle ossa, ed in quantità anche minore, ma sempre notevole, nei capillari dell'acino epatico: nei vasi degli altri organi il trovato è raro. In quegli organi così predisposti le cellule globulifere si trovano nel 3° e principalmente 4° e 5° giorno colle ombre e corpuscoli rossi ancora immutati: poi nei giorni successivi le cellule inglobate diminuiscono di volume, si deformano in modo che alla fine della 1ª settimana, nello stesso posto a preferenza, vuol dire dove già erano fin dal principio fermate le cellule globulifere, si trovano le iniziali trasformazioni regressive pigmentali entro i fagociti stessi, i quali anche s'impiccioliscono, si deformano e concrescono coi residui regressivi dei corpuscoli rossi: alla fine della 2ª settimana, fin dove ho fatto lo studio sistematico, nella milza specialmente, nel midollo delle ossa e nel fegato, mai nelle glandule linfatiche, si trovano come piccoli trombi giallo-bruni, che concrescono col tessuto circostante ispessito: in seguito s'impiccioliscono gradatamente e lentamente, in modo che dopo 2 mesi e mezzo circa (72 giorni) ho potuto bene apprezzarli.

In conclusione, in quest' alterazione del sangue il fagocitismo comincia nel sangue, e salvo parziale passaggio temporaneo dei fagociti nelle glandule linfatiche, si completa nello stesso albero circolatorio in organi speciali, dispostivi per condizioni di circolo, le quali devono rappresentare almeno la parte principale di ciò, che diciamo predisposizione ed elettività di questi organi a fermare, trasformare e distruggere i fagociti ed il materiale da loro ingoiato. Quindi le ombre finiscono e si fondono coi residui pigmentali nelle cellule globulifere, non si trasformano in piastrine.

Risulta anche l'importanza degli ingrossamenti delle glandule linfatiche nelle alterazioni sia acute che croniche del sangue, come infezioni, ecc. Su questi fatti io, senza escludere contribuzioni accessorie, opino, che l'ingrossamento non è la conseguenza di dette alterazioni, ma è principalmente l'esponente della funzione fagocitica che aumenta per spazzare le sostanze aliene circolanti nel sangue, per cui aumenta l'attività degli organi linfogeni e produttori di fagociti, come le glandule linfatiche, il midollo delle ossa, la milza: infatti clinicamente termina l'ingorgo delle glandule linfatiche, prin-

cipalmente l' acuto ed in parte anche il cronico quando cessa il bisogno del fagocitismo: e qualche cosa di simile si potrebbe applicare al tumore infettivo splenico ed ai dolori profondi delle ossa nelle infezioni.

3.°

Modo di azione degli anticoagulanti sinora sperimentati.

A questo proposito io avevo già sperimentato il cloruro di sodio per iniezione intraperitoneale ed il cloruro di calcio per iniezione endovenosa: i risultati furono già pubblicati nei sunti precedenti.

Nel novembre passato ho voluto sperimentare sul vivo i risultati ottenuti da Arthus e Pagès *nel sangue estratto* col fluoruro di sodio e con l'ossalato di sodio, con cui essi ottennero la incoagulabilità del sangue, ed emisero l' opinione ciò dipendere dal fatto, che queste sostanze precipitano i sali di calce dal sangue, e quindi manca la base (calce) per formarsi la fibrina, che essi considerano come un albuminato di calce. Non avendo potuto disporre di ossalato di sodio, ho impiegato per iniezione endovenosa nei cani il fluoruro di sodio, ed invece dell' ossalato di sodio quello di ammoniaca.

Veramente in tutti questi sperimenti nel vivo il sangue coagula poco o nulla in primo tempo, precisamente come succede col cloruro di sodio, e di calcio: e siccome gli animali muoiono abbastanza rapidamente, il fatto dell' incoagulabilità resta definitivo. Dirò di quì a poco dell'apparenza del sangue in questi casi, quando si estrae, di aggrumirsi rapidamente e fortemente nell' acqua distillata; ma quella è soltanto un'apparenza giustificata dai cambiamenti indotti nel sangue, non una vera formazione di fibrina, come si conferma col ripetuto esame microscopico.

Iniettando alle dosi fissate da Arthus e Pagès il fluoruro di sodio, o l'ossalato di ammoniaca nella giugulare dei cani, in ambo i casi si ha press' a poco lo stesso quadro clinico, gli stessi cambiamenti nel sangue e quasi l'identico reperto anatomico.

Col fluoruro di sodio ho operato 6 cani, 4 coll' intera dose, un' altro colla metà, l'ultimo colla 4ª parte: dei 4 operati coll'intera dose, 2 erano stati avvelenati precedentemente coll'acido pirogallico ed erano in via di guarigione, ancora però con forte ipo-

globulia e forte aumento delle piastrine: noto fin da ora, che lo esperimento col fluoruro di sodio dopo l'acido pirogallico ho fatto appositamente dopo i risultati ottenuti nei 2 primi sperimenti.

Dei 6 casi operati, quelli colla dose intera (0,20 di fluoruro di di sodio per 100 di sangue dell'animale), sono tutti morti tra 20 a 30 minuti, sebbene l'operazione si fosse compiuta senza il menomo incidente: gli altri hanno sopravvissuto con sintomi attenuati, molto più in quello al 4° della dose.

I sintomi di quei cani che muoiono costantemente con la rapidità sunnotata, sono: dopo qualche minuto abbondante salivazione, forte dispnea, così come fa un cane quando ha fatto una corsa lunga sforzata: emissione di materie fecali prima conformate, poi semiliquide: alla dispnea segue apnea, e dopo 15 20 fino a 30 secondi riappare la respirazione coll'aspetto dispnoico, ricominciando gli atti respiratorii prima debolissimi e superficiali per aumentare successivamente d' intensità sino a rendersi più frequenti e più forti che nello stato normale: dopo 20 a 30 atti respiratorii ricompare la cessazione del respiro e poi di nuovo la dispnea: si ha insomma il risultato sperimentale tipico del fenomeno di Cheyne-Stokes: gradatamente si accentua il collasso, risaltano i fenomeni di contrazioni fibrillari dei muscoli del tronco e degli arti, e dopo 20 a 30 minuti dall' inizio dell' operazione, l'animale muore con tutti i mezzi praticati, anche colla respirazione artificiale.

Nei 2 cani avvelenati precedentemente dall' acido pirogallico, la sintomatologia mostra solo la differenza, che essi cadono più presto in collasso, e pel fenomeno di Cheyne-Stokes, invece della dispnea alternantesi colla pausa respiratoria vi sono apparenze di singulti staccati.

Il cane trattato colla metà di floruro pare di star bene: ha tendenza a sdraiarsi, ma subito si rialza: mostra lieve dispnea: ha stimolo a defecare, anche dopo aver emesso le feci: dopo 20 minuti ha 2 volte vomito: poi sta sempre meglio e guarisce.

Il cane trattato al 4° della dose non ha mostrato sofferenze rilevanti: dopo mezz' ora circa ha vomitato il pane in gran parte digerito, e dopo poco tempo ha vomitato ancora 2 volte una sostanza liquida verdastra, biliosa. È restato adagiato a terra, ma poco abbattuto: dopo 5 ore dandogli pane asciutto, l'ha mangiato. Il giorno seguente è in buone condizioni e poi guarisce completamente.

Il sangue, cavato dopo 10 a 15 minuti dall'operazione, e più

rosso e più denso dell' ordinario: si aggrumisce molto presto nell'acqua distillata, in forma però granellosa, che subito si dissolve senza traccia di coagulo fibrinoso: si conferma la mancante formazione di fibrina al microscopio.

All'esame del sangue, cavato nella soluzione osmica, si ha costantemente: i corpuscoli rossi perfettamente conservati, anche col loro contenuto in emoglobina, non essendo affatto decolorati: le piastrine distrutte tutte o quasi, notandosene soltanto una quantità ancora riconoscibile, con contorni indecisi, irregolari, o come cumuli granulari: nessuna piastrina delle poche riconoscibili si può mettere al confronto del preparato di sangue del cane, fatto precedentemente all'operazione. I corpuscoli bianchi non mostrano alterazioni rilevanti. I corpuscoli rossi, così come si cava il sangue, anche senza alcun mestruo, hanno la tendenza di addossarsi, conglutinarsi, conservando però la loro forma perfetta; ne risultano quindi molti grumoli a grappolo, senza però tracce di fibrina; e ciò rende ragione dall'apparente, estesa e precoce coagulazione. Con la soluzione ordinaria cloruro-sodico al contaglobuli Thoma-Zeiss, costantemente si ha iperglobulia, aumentando in ogni caso il numero dei globuli rossi almeno di un terzo dal normale, talora più della metà, come si potrà riscontrare nel lavoro per esteso. Devo ricordare, che 2 di questi animali avvelenati coll' acido pirogallico, e che, essendo in via di guarigione, avevano il sangue con forte ipoglobulia e con aumento notevole delle piastrine, hanno mostrato sempre più rilevante il doppio fatto pel contrasto, cioè, l'aumento forte dei corpuscoli rossi con tutta l' ipoglobulia, e la distruzione completa delle piastrine con tutto il loro forte aumento.

L'esame del sangue negli altri 2 casi, alla metà ed al 4°, mostra tutti i fatti sunnotati, però ad un grado sempre minore, come si troverà segnato nel diario: vi è iperglobulia, l'attacco parziale delle piastrine, la diminuita coagulabilità del sangue.

Essendo gli effetti del fluoruro di sodio, molto simili a quelli del cloruro di sodio, di calcio, si potrebbe sperimentare anche col bromuro di sodio, col ioduro di sodio, ecc. per vedere se si hanno effetti simili.

Il reperto anatomico dei cani avvelenati col fluoruro di sodio, per ciò che riguarda il sangue, è, che lo stesso rimane liquido, anche raccogliendone una notevole quantità appena morto l'animale. Il sangue si trova liquido in tutti i vasi, dalle più piccole vene, come si vede all' incisione delle parti molli, sino alle cave, anche

nelle cavità cardiache, perfino nelle appendici auriculari, sia che la sezione si fa immediatamente, sia dopo 24 ore: e ciò fa molto contrasto col sangue coagulato, che si trova nei cani sani: il contrasto poi è massimo, se si fa il confronto col sangue fortemente coagulato come si trova nei cani morti nei primi giorni dell'avvelenamento pirogallico. Nella stessa ora ho sezionato parecchi di questi cani alla presenza di Colleghi, per farne fare il confronto.

Nel resto il muscolo cardiaco è più bruno, contratto: i polmoni leggermente congesti con enfisema vicariante acuto nelle parti anteriori: più rosso-bruno e congesto è il fegato ed anche i reni, i quali mostrano un colorito tendente al rosso-violaceo. La vescica biliare è distesa da bile di un verde giallo-bruno, di media densità. Vescica ordinaria contratta, vuota di urina. Milza pallida, impicciolita, con capsula afflosciata, priva quasi di polpa. Glandule linfatiche di color rosso-violaceo diffuso. Midollo delle ossa di un colorito violaceo, quasi come feccia di vino. Centri nervosi di colorito tendente al roseo per la stessa stasi venosa che negli altri organi, oltre alla contribuzione di questo colorito, fatta dall'iperglobulia. Nessun idrope marcato nelle cavità sierose, come per contrario si ha col cloruro di sodio. Stomaco ed intestini privi di contenuto liquido e più o meno contratti. Un certo grado di imbibizione sierosa, ben apprezzabile, delle parti molli del tronco, principalmente dei connettivi laschi (sottocutaneo, sottosieroso). Farò al più presto l'esame istologico dei varii pezzi, conservati già in alcool assoluto.

Nei 2 cani con precedente avvelenamento pirogallico il sangue anche si trova prevalentemente liquido, meno piccoli coaguli teneri, rosso-bruni nelle cavità cardiache. Altri animali, ammazzati allo stesso giorno dell'avvelenamento pirogallico, mostrano forte ed estesa coagulazione del sangue nel cuore e nei vasi.

Nei cani avvelenati con dosi minori, il sangue pur mostrando dei piccoli grumi teneri, rosso-bruni, è a preferenza liquido.

I due cani trattati coll'iniezione endovenosa di ossalato di ammoniaca, calcolando secondo Arthus e Pagès a 0,07 di ossalato per 100 parti di sangue dell'animale, hanno mostrato in massa risultati simili a quelli ottenuti col fluoruro di sodio, con alcune particolarità, che si riscontreranno nel testo del lavoro. Mi preme di rilevare che le piastrine sono decisamente attaccate, che il sangue si conglutina in grumuli di corpuscoli rossi, ma coagula poco o nulla; che vi è simile iperglobulia; e che in uno degli animali, in cui

per la rottura dell' ago-cannula l' operazione non riuscì perfetta, perdendosi sangue ed anche una quantità del materiale di iniezione, il cane morì solo dopo 5 giorni, con una forma grave di dissenteria, che soffrì dal 1° all'ultimo giorno, confermata poi all'autopsia anche per numerose erosioni emorragiche sulle pieghe della mucosa rettale: dopo mezz' ora dall' operazione, l'urina emessa aveva reazione evidentemente alcalina.

Il 2° cane, in cui l'operazione procedette senza alcun incidente, muore dopo 15 minuti, ed il fatto più saliente sono le contrazioni cloniche dei muscoli orbicolari delle palpebre, dei muscoli del padiglione auricolare, del collo, tronco ed arti e perfino della coda, mentre il globo oculare è immobile e la cornea perfettamente insensibile. I movimenti dell'orbicolare, che erano i più forti, continuano sempre decrescendo sino ad alcuni minuti dopo la morte, mentre gli altri movimenti *idio-muscolari* continuano per un quarto di ora dopo la morte, accertata coll'apertura delle cavità dell'animale, trovandosi anche abolito il movimento vermicolare dell'intestino. Il cane non mostra una vera dispnea, invece fin dal principio un respiro molto superficiale, polso debole, immobilità: solo dopo aver praticato la respirazione artificiale, mostra qualche singulto e poi muore. Alla sezione le stesse lesioni, che col fluoruro di sodio: soltanto i reni mostrano l' apice delle piramidi (papille) di un colorito grigio-biancastro, torbido, che non ancora ho esaminato finamente.

Prima di conchiudere per gli esperimenti suesposti in rapporto allo scopo delle mie ricerche, ho cercato darmi ragione dell' iperglobulia, la quale certamente è la conseguenza dell' ispessimento del sangue e quindi un aumento relativo. Se non che l'interpetrazione mi è sembrata non facile, mancando le cause ed il meccanismo ordinario delle anidremie: infatti gli animali muoiono in meno di mezz' ora e non vi sono forti perdite per l'intestino, nè per i reni, nè vi è idrope delle cavità sierose. Nè la milza, quasi direi spremuta, può spiegare quell' aumento di numero dei corpuscoli rossi, forse vi contribuirà; ma quell'alterazione della milza è comune negli stati asfittici, e deve dipendere da spasmo delle fibre muscolari delle trabecole sulle lacune venose. Io opino, che la ragione principale dell'iperglobulia debba mettersi sul conto del grave disordine e difficoltà intervenuti così rapidamente nel ritmo respiratorio, fenomeno di Cheyne-Stokes, da cui l'impedimento al deflusso venoso, quindi

pressione fortemente positiva nelle vene e perfino nei capillari, e da ciò trasudamento sieroso lieve, ma rapido e generalmente diffuso: è questa una delle ragioni dell'anidremia perperacuta. Un'altra ragione dell'anidremia si deve ricercare, a parer mio, nella pressione aumentata nelle grandi vene, per cui nelle stesse è difficoltato lo scarico della linfa: quindi la stasi linfatica generale rapida, che se da una parte contribuisce al lieve anasarca, dall'altra priva il sangue di tutta quella parte liquida, che avrebbe dovuto versarvisi. Ho cercato dare questa spiegazione, alla quale mi fermo, fino a che non si presenterà un' altra più plausibile.

Riepilogando su queste sostanze, che ostacolano la coagulazione, ricordando che la cresciuta coagulabilità del sangue è soltanto apparente, perchè il sangue si rapprende per una specie di conglutinamento rapido dei corpuscoli rossi, senza traccia di formazione di fibrina, e ciò confermato dalla mancanza di qualsiasi coagulo dopo la morte, si può dire: *Il fatto che più importa al caso nostro è la distruzione delle piastrine e la conservazione dei corpuscoli rossi e del loro contenuto.*

E quì è il luogo di notare, che soltanto dallo studio complessivo delle diverse parti corpuscolari del sangue si possono trarre, secondo la mia opinione, conclusioni sicure. Se, ad esempio, si fa calcolo solo delle piastrine, si potrebbe cadere nell' errore di giudizio, in cui probilmente sono caduti tanti, anche osservando bene i fatti: così Hayem invoca il fatto della lenta coagulabilità del sangue del cavallo, giustificando ciò colle piastrine del sangue dello stesso, che resistono notevolmente; mentre il sangue del cane, egli dice, coagula presto e le piastrine di disfanno realmente con rapidità. Così ancora per Hayem è di un valore decisivo l'esperimento dell' iniezione di peptone, per cui il sangue non coagula perchè le piastrine resistono più a lungo dopo l'estrazione, ecc. Ma bisogna in questi casi far calcolo anche della costituzione speciale dei corpuscoli rossi, che sono più tenaci del loro contenuto; ed allora non è necessario ricorrere alle piastrine, le quali, come dimostra il fatto, se sono esse sole attaccate e distrutte impediscono la coagulazione, non l' incitano: e per contrario, se sono rispettate, mentre i corpuscoli rossi sono distrutti, il sangue coagula rapidissimamente.

Domandiamo ora: ci entrano i sali di calce nel fatto della coagulazione e per quanto? L'avvelenamente pirogallico, aumenta ed accelera la coagulazione nei primi giorni, poi la diminuisce: come si deve spiegare la sua azione? Come agiscono il cloruro di

sodio, di calcio, che in primo tempo impediscono la coagulazione, mentre dopo un giorno il sangue coagula fortemente, rapidamente, anche spontaneamente nell'albero circolatario? Se l'acido pirogallico e le altre sostanze avessero la loro azione speciale agendo sui sali di calce, allora il pirogallolo dovrebbe avere, secondo l'opinione di Arthus e Pagès l'azione di precipitare i sali di calce (ciò che sarebbe una mera ipotesi, non combinandosi l'acido pirogallico colle basi) soltanto dal 3° giorno in poi dall' avvelenamento, quando la coagulabità diminuisce. Ed allora in primo tempo come agirebbe, se si vuole mettere in mezzo i sali di calce per aumentare la coagulabilità? Più evidentemente contraria pei sali di calce è l'altra ragione, impiegando cioè, quelle sostanze che in primo tempo impediscono o quasi la coagulazione, mentre dopo un giorno il sangue coagula rapidissimamente e fortemente (cloruri, ecc.) Se queste sostanze in primo tempo non fanno coagulare il sangue perchè precipitano i sali di calce, come spiegare dopo un giorno il fatto opposto, con i sali di calce già precipitati?: il sangue dovrebbe continuare a non coagulare. Se da un' altra parte in un animale il sangue coagula poco e molto tardamente, come succede alla fine della 1ª settimana dell'avvelenamento pirogallico, cavando il sangue nella soluzione osmica, sebbene la coagulazione sia tenue, essendovi poco materiale coagulabile, pure si fa presto: come si può far qui entrare in gioco i sali di calce? La sola cosa, che io posso invocare è la conservazione delle piastrine molte numerose in quel tempo, quindi l'imprigionamento di una sostanza, la quale abbondantemente si libera, se il sangue non si cava nella soluzione osmica; la quale poi se rispetta le piastrine, rende libera una parte del contenuto dei corpuscoli rossi, che con tutto il poco materiale coagulabile stimola ed incita la coagulazione dello scarso fibrinogeno.

Ma si potrebbe giustamente domandare: perchè una volta precipitati i sali di calce il sangue non coagula più? E si potrebbe rispondere, che bisogna trovare la spiega di tutto questo non in un'azione diretta, essenziale, altrimenti dovrebbe succedere sempre questa precipitazione ogni volta che è impedita la coagulazione. Vuol dire che la precipitazione dei sali di calce deve essere una delle tante cause che mettono in libertà la sostanza inibitrice della coagulazione: e siccome risulta dai fatti esposti, che le piastrine avrebbero la proprietà fisiologica di elaborare, e almeno appropriarsi e contenere tale sostanza, l'esperimento deve chiarire, se quelle

sostanze, che precipitano i sali di calce. distruggono anche le piastrine, ovvero se mettono in libertà qualche materiale, che abbia per conto proprio la potenza di distruggere le piastrine e liberare così la sostanza inibitrice. Come ho esposto, i fatti sperimentali mi hanno dimostrato, che quelle sostanze distruggono le piastrine, ed è questo il fatto più evidente e sicuro che succede nel sangue circolante.

Che se alla teoria espostavi sulla coagulazione si possa mettere avanti ed aggiungere l'altra di cambiamenti chimici speciali che intervengono, per cui il sangue non coagula, o coagula troppo, non vi è ostacolo che vi contradica: le intime trasformazioni chimiche che si fanno nell'organismo vivente sono molto numerose ed in gran parte inesplorate. Ma quando vicino a tanto ignoto, che soltanto più tardi potrà completare la quistione, io metto avanti una serie di fatti positivi, sperimentali, cioè, la contribuzione diretta coagulante o anticoagulante che mettono le diverse parti corpuscolari del sangue, e ciò in modo costante, ho il dritto di affermare, che pur essendo azioni intime chimiche, queste si fanno per mezzo del contenuto delle varie parti conformate del sangue, quando liberano il loro contenuto.

In altra occasione mi farò il dovere di comunicare alla Accademia il risultato che potrò ottenere dalla formazione del trombo, di cui ho pronto il materiale di sperimento, già ottenuto dal cane, con trattamento dei pezzi, presi dal vivo, nel liquido di Fol.

Devo però fin d'ora far notare, che il trovarsi il reticolo di fibrina a preferenza attorno alle piastrine non è per me un fatto che dipende dalla sostanza coagulante, che si libera dalle stesse, perchè le piastrine possono restare perfettamente inalterate di mezzo al reticolo fibrinoso, come bellamente si vede quando si cava il sangue nella soluzione osmica: io ho ragione di credere che si si trovano a preferenza piastrine nel reticolo in parola, perchè essendo molto leggiere, si muovono con grande facilità nel liquido, come si vede nei preparati, e perciò si imbrigliano nei filamenti del coagulo, molto più che i corpuscoli rossi pesanti.

Conlusione.

In modo che, dopo tutto il già esposto, mi par lecito conchiudere, che *il fatto della coagulazione del sangue, cioè della formazione della fibrina, è dovuto all' azione su ciò che dicesi fibrinogeno*

del contenuto dei corpuscoli rossi; mentre il contenuto delle piastrine ha l' ufficio contrario, cioè, di impedire la coagulazione: e veramente l'esistenza nel sangue normale circolante di un 3.° elemento conformato va più giustamente con questa teoria, assegnandosi alle piastrine una funzione fisiologica, cioè la produzione di una sostanza, che continuamente contrasta l' azione coagulante dell' emoglobina: mentre non si potrebbe ragionevolmente comprendere il perchè dell' esistenza normale delle piastrine con una deputazione patologica, cioè la produzione di una sostanza che eccita la coagulazione.

SPIEGAZIONE DELLE FIGURE

Tutte le figure sono riprodotte col sistema 3-8 Hartnack, meno la 8.ª che è ritratta col sistema 3-4.

Fig. 1.ª — Spazii lacunari linfatici della sostanza midollare, tra 2 cordoni follicolari, ripieni di cellule globulifere — Glandola linfatica di cane dopo 3 giorni e mezzo dall' avvelenamento pirogallico.

Fig. 2.ª — Spazii lacunari dei seni linfatici perifollicolari ripieni di cellule globulifere — Idem, idem del precedente.

Fig. 3.ª — Spazii lacunari linfatici della sostanza midollare, tra 2 cordoni follicolari: assenza di cellule globulifere — Cane al 7.° giorno dell'avvelenamento.

Fig. 4.ª — Spazii lacunari dei seni linfatici perifollicolari, privi anche di cellule globulifere — Idem, idem del precedente.

Fig. 5.ª — Lacune venose alla periferia di un corpuscolo di Malpighi ripiene di cellule globulifere — Milza di cane avvelenato dall'acido pirogallico da 3 giorni e mezzo.

Fig. 6.ª — Lacune venose della milza, limitanti una trabecola, ripiene di cellule globulifere — Idem, idem del precedente.

Fig. 7.ª — Piccola vena della milza ripiena di cellule globulifere, oltre il sangue: infarto emorragico circostante — Idem, idem dei 2 precedenti.

Fig. 8.ª — Trasformazione pigmentale delle cellule globulifere al dintorno di un corpuscolo di Malpighi — Cane al 13.° giorno dell'avvelenamento.

Fig. 9.ª — Idem del precedente a più forte ingrandimento: è disegnato solo un tratto fuori il corpuscoli di Malpighi, là ove si ha la metamorfosi pigmentale.

Fig. 10.ª — Cellule globulifere nei capillari dell' acino epatico: rigonfiamento torbido e degenerazione grassa delle cellule epatiche — Cane al 4.° giorno dell' avvelenamento.

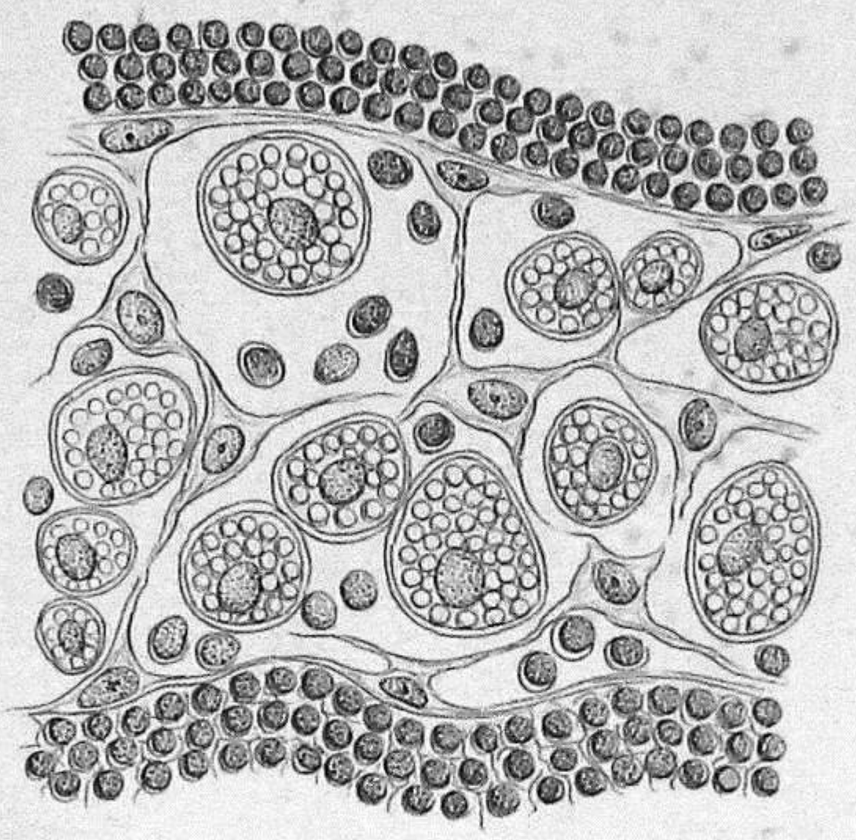
Fig. 11.ª — Metamorfosi pigmentale del contenuto delle cellule globulifere nei capillari dell' acino epatico: degenerazione grassa residuale delle cellule parenchimali — Cane avvelenato da 7 giorni e mezzo.

Fig. 12.ª — Midollo normale della diafisi del femore del cane.

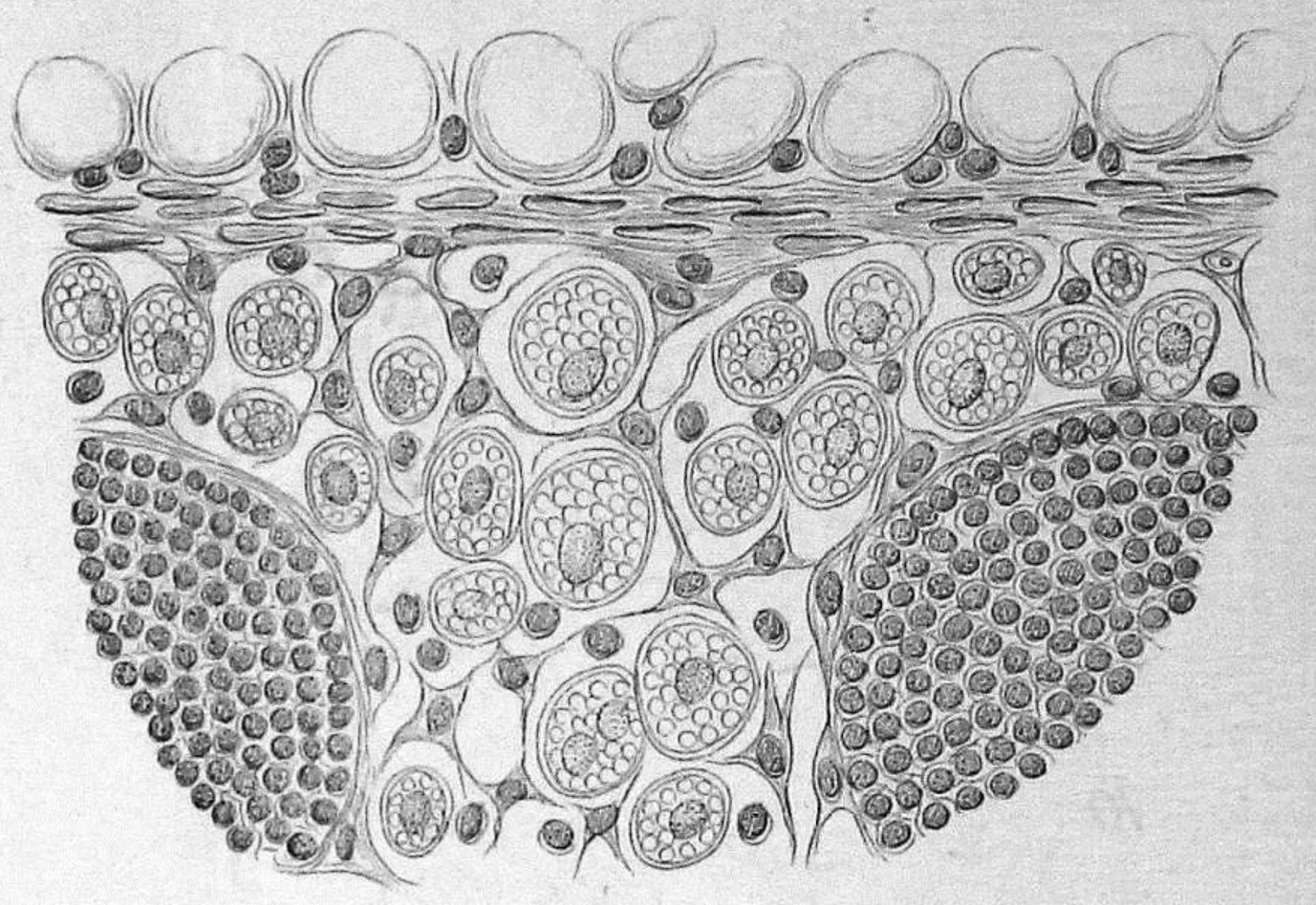
Fig. 13.ª — Cellule globulifere nei vasi del midollo del femore: forte iperplasia della trama linfogena del midollo — Cane al 4.° giorno dell'avvelenamento.

Fig. 14.ª — Metamorfosi pigmentale delle cellule globulifere nel midollo del femore: forte iperplasia del tessuto linfatico ed atrofia dell'adiposo — Cane al 13.° giorno dell' avvelenamento.

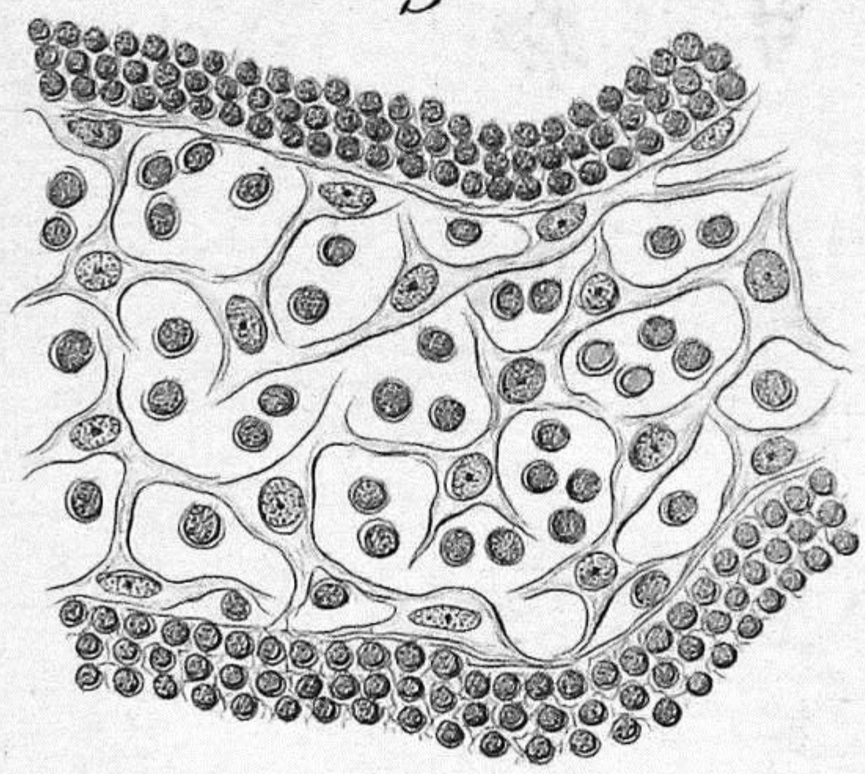
1



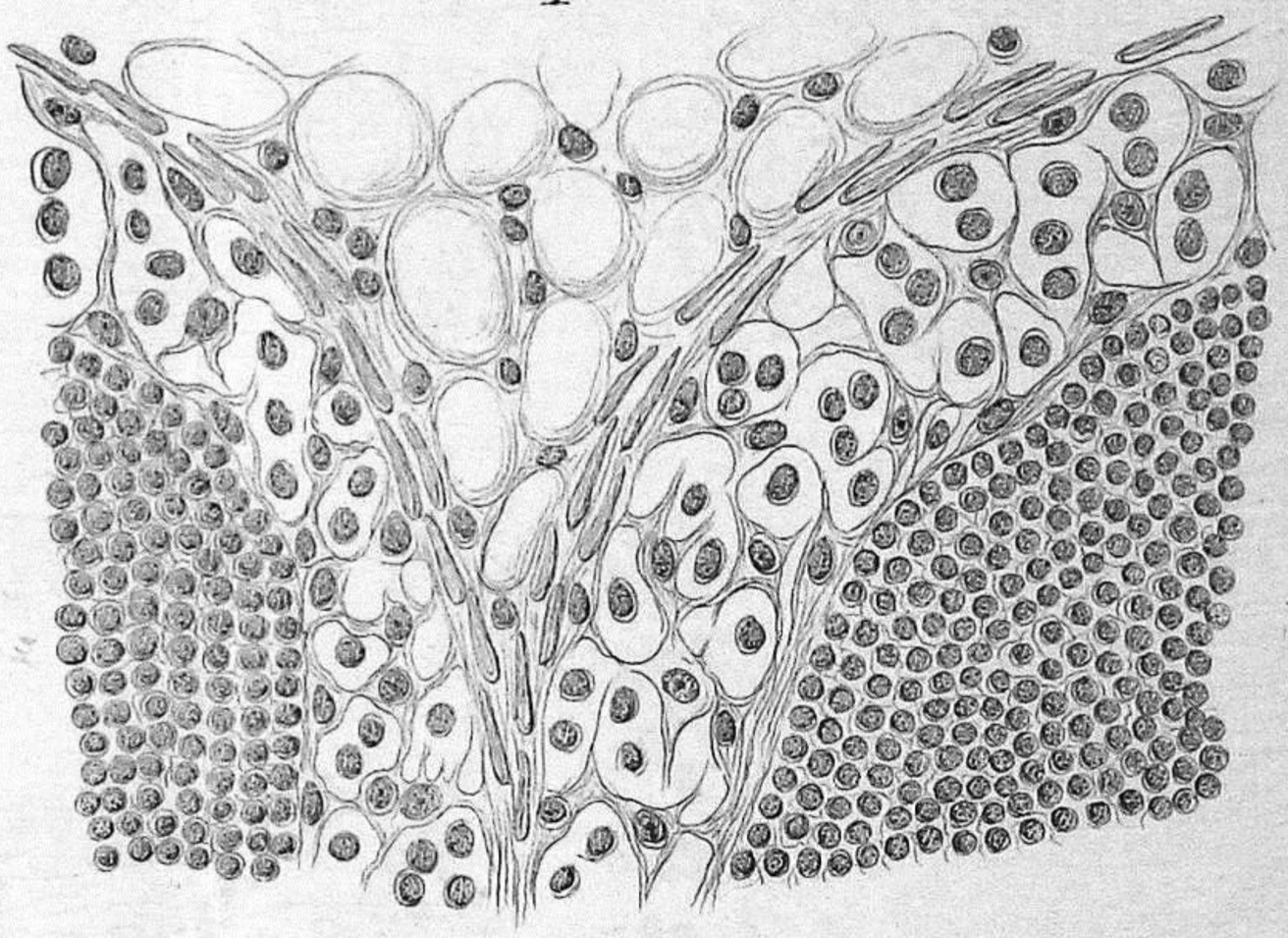
2



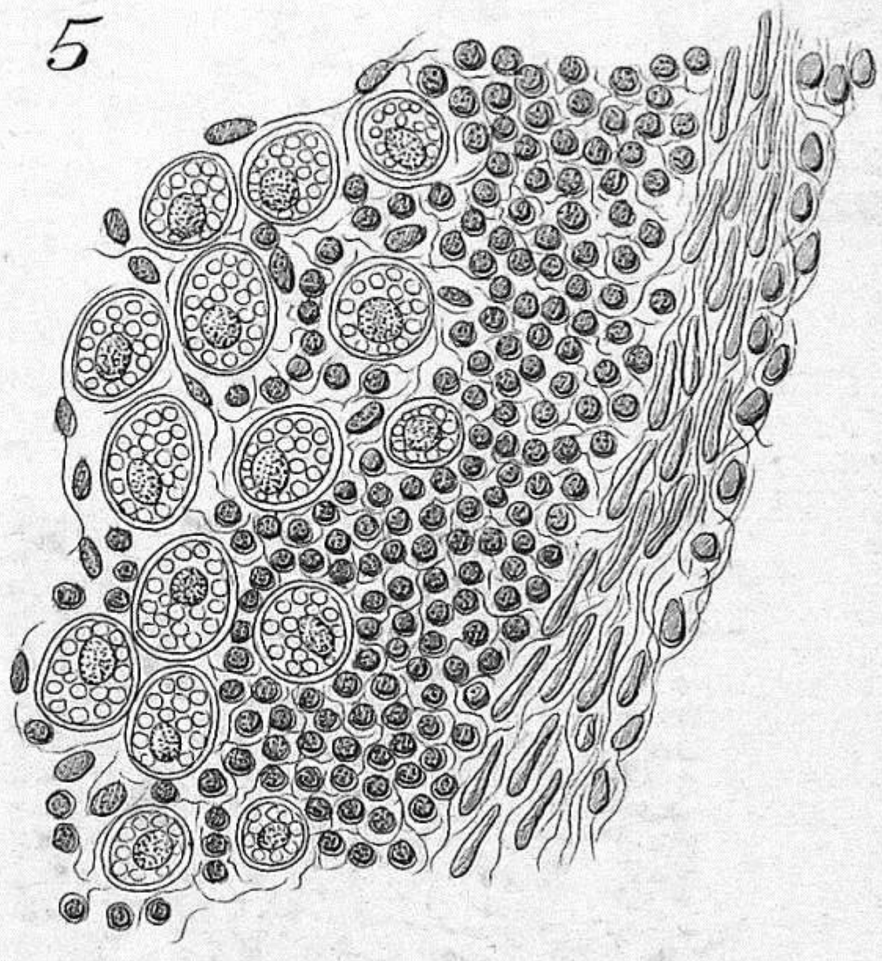
3



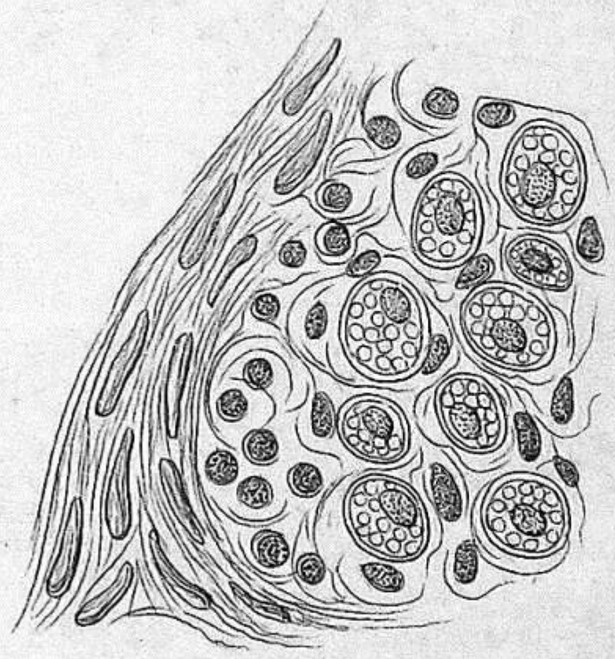
4



5



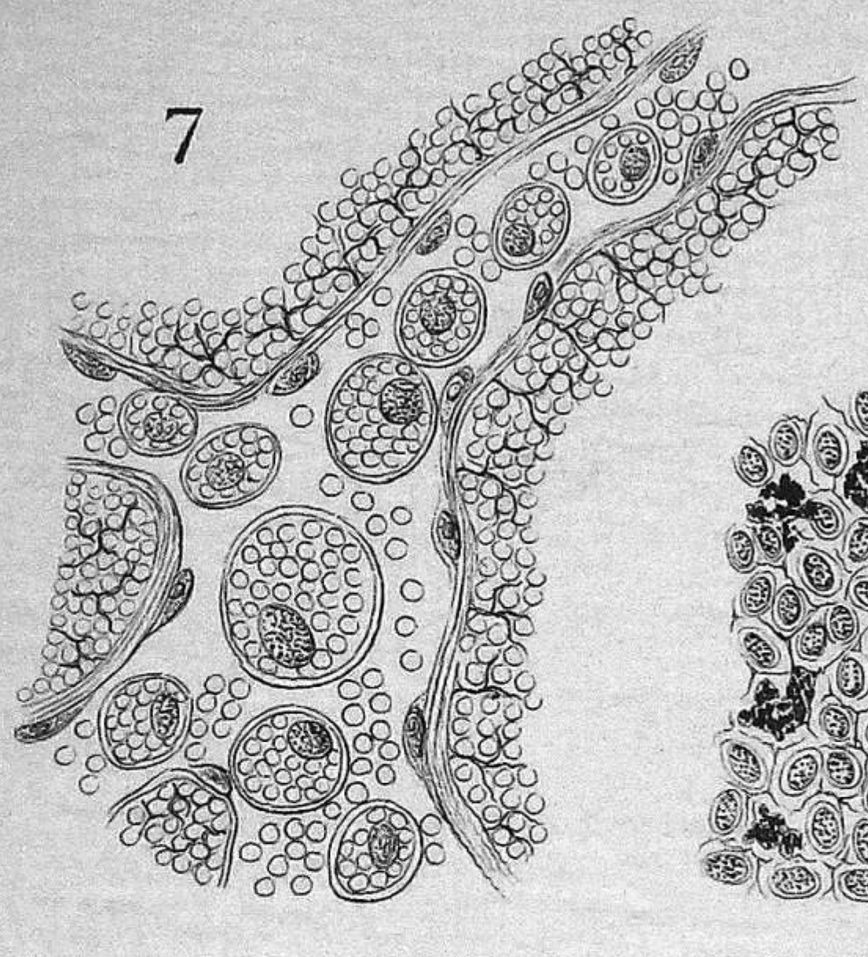
6



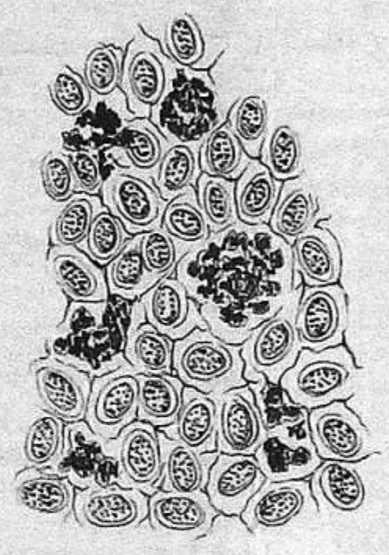
A. Petrone prep. e dis.

St. lit. A. Serino.

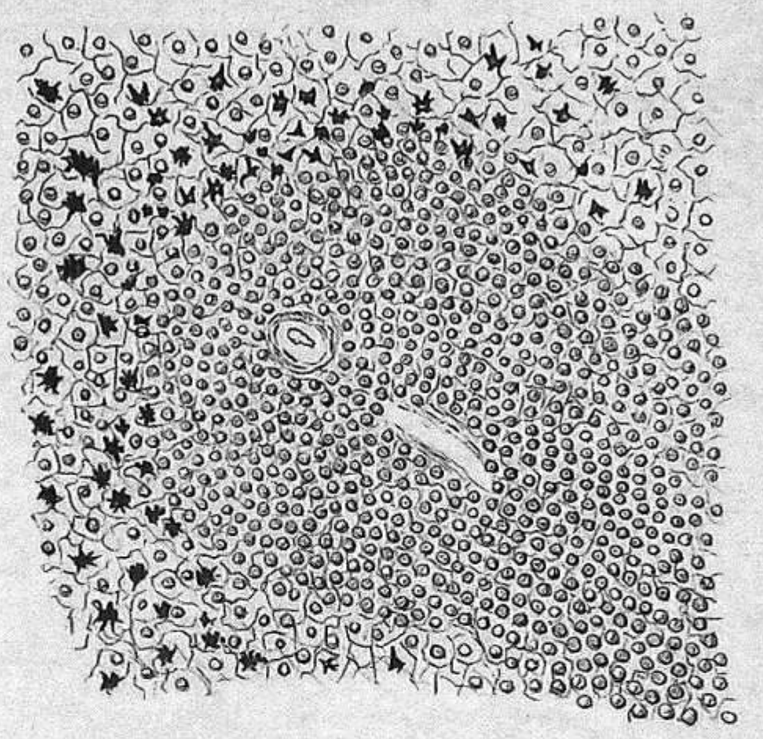
7



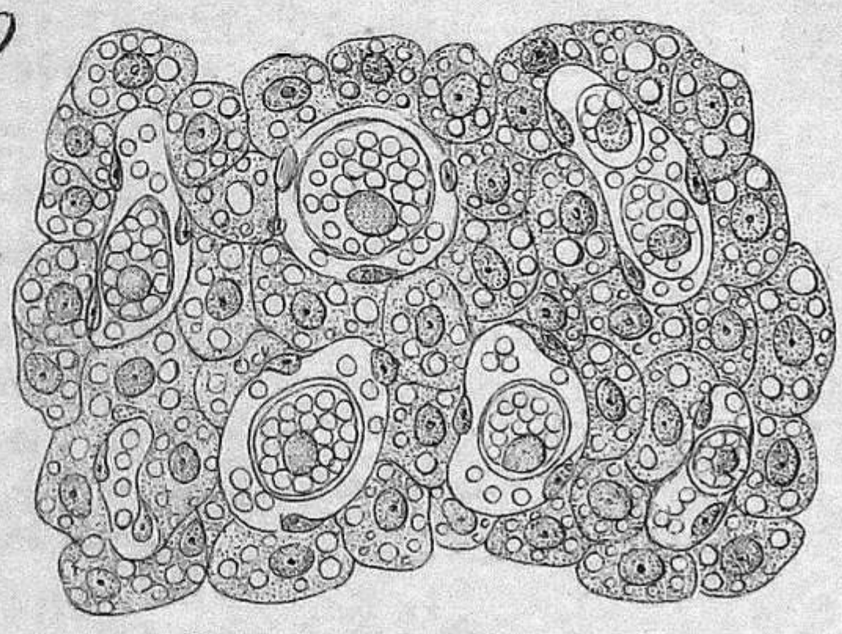
9



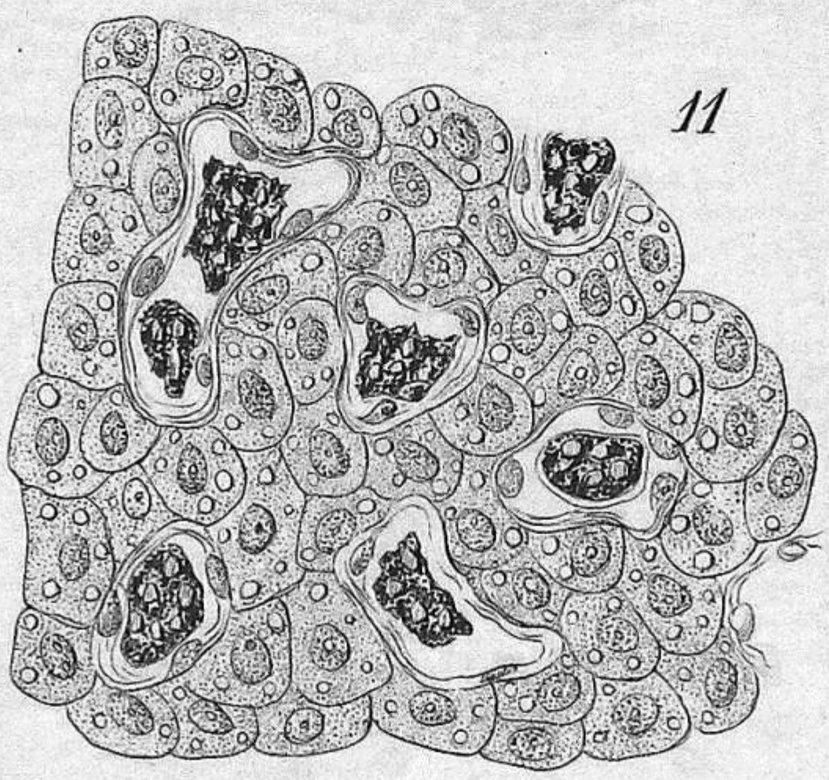
8



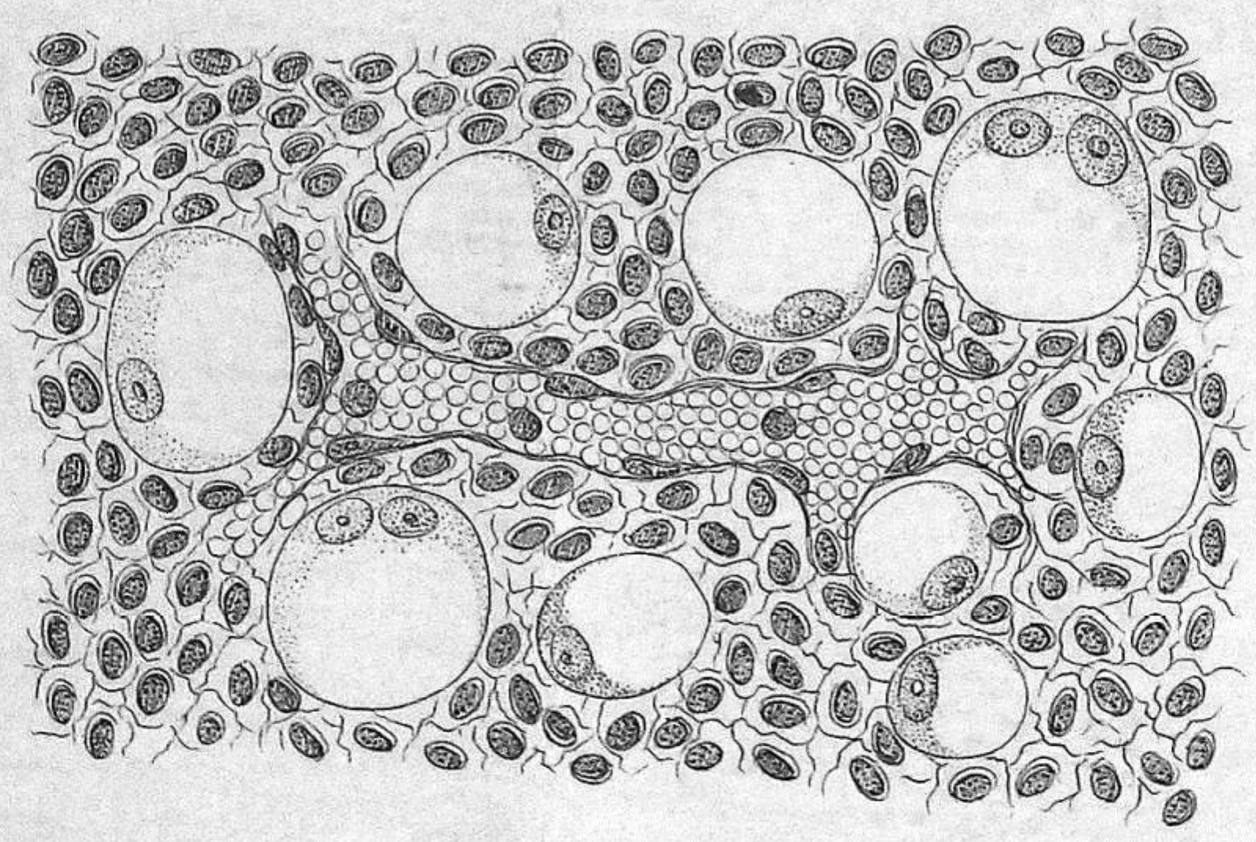
10



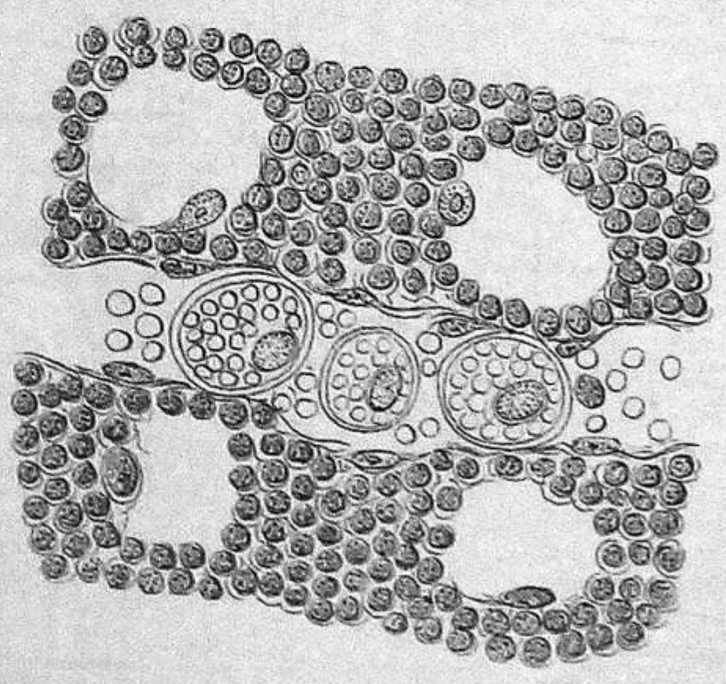
11



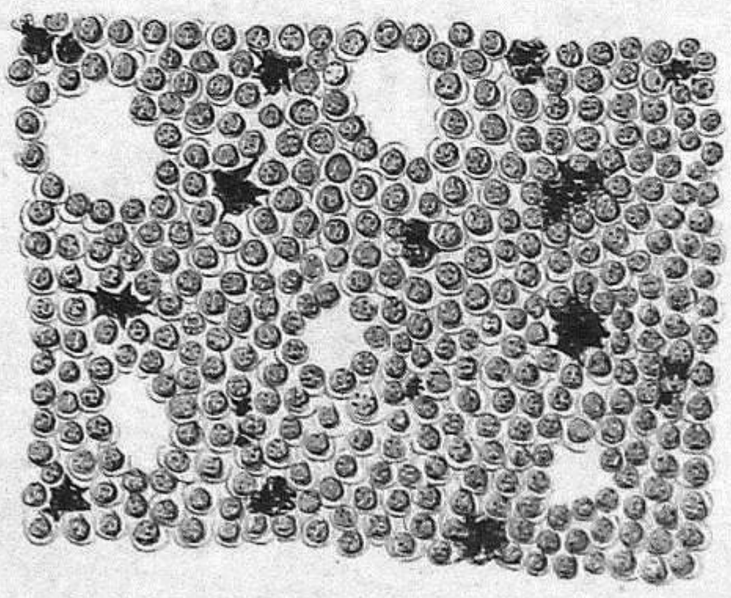
12



13



14



A. Petrone prep. e dis.

Napoli - lit. A. Serino